



QMC

Quaderni di Medicina e Chirurgia

La leucodistrofia metacromatica: conoscere per diagnosticare

Stefano Bruni, Valeria Calbi, Cristina Baldoli, Francesca Fumagalli

PACINI
EDITORE
MEDICINA

QMC

Quaderni di Medicina e Chirurgia

La leucodistrofia metacromatica: conoscere per diagnosticare

Stefano Bruni¹, Valeria Calbi², Cristina Baldoli³, Francesca Fumagalli⁴

¹ Orchard Therapeutics Italia;

² SR-Tiget, Unità di Immuno Ematologia pediatrica, Ospedale San Raffaele, Milano;

³ Unità di Neuroradiologia, Ospedale San Raffaele, Milano;

⁴ SR-Tiget, Unità di Immuno Ematologia pediatrica, Unità di Neurologia e Neurofisiologia,
Ospedale San Raffaele, Milano

**PACINI
EDITORE
MEDICINA**

Comitato Scientifico

Ferdinando De Negri
Medicina Interna

Pier Carlo Salari
Pediatria

Massimo Mari
Psichiatria

Direttore Responsabile
Patrizia Alma Pacini

Edizione
Pacini Editore Srl - Via A. Gherardesca 1 - 56121 Pisa
Tel. 050 313011 - Fax 050 3130300
info@pacinieditore.it - www.pacinimedicina.it

Divisione Pacini Editore Medicina
Fabio Poponcini - Sales Manager
Tel. 050 3130218 - fpoponcini@pacinieditore.it
Alessandra Crosato - Junior Sales Manager
Tel. 050 31 30 239 - acrosato@pacinieditore.it
Manuela Mori - Advertising and New Media Manager
Tel. 050 3130217 - mmori@pacinieditore.it

Redazione
Lucia Castelli
Tel. 050 3130224 - lcastelli@pacinieditore.it

Grafica e impaginazione
Massimo Arcidiacono
Tel. 050 3130231 - marcidiacono@pacinieditore.it

© Copyright by Pacini Editore Srl - Pisa



Open Access

ISSN 2532-7593 (print) - ISSN 2974-5578 [online]

La rivista è open access e divulgata sulla base della licenza CC-BY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione – Non commerciale – Non opere derivate 4.0 Internazionale). Il fascicolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>. L'editore resta a disposizione degli aventi diritto con i quali non è stato possibile comunicare e per le eventuali omissioni. Le fotocopie per uso personale del lettore (per propri scopi di lettura, studio, consultazione) possono essere effettuate nei limiti del 15% di ciascun volume/fascicolo di periodico, escluse le pagine pubblicitarie, dietro pagamento alla SIAE del compenso previsto dalla Legge n. 633 del 1941 e a seguito di specifica autorizzazione rilasciata da CLEARedi: <https://www.clearedi.org/topmenu/HOME.aspx>. Registrazione al Tribunale di Pisa n. 23 del 12/12/1998. Quaderni di Medicina e Chirurgia 2022, suppl. 1 al n. 2. Edizione digitale novembre 2022.

Introduzione

La leucodistrofia metacromatica (MLD) è una rara malattia neurometabolica a ereditarietà autosomica recessiva. Fa parte della famiglia delle leucodistrofie (malattie della sostanza bianca cerebrale) e di quella delle malattie da accumulo lisosomiale ed è causata da varianti patologiche bialleliche nel gene dell'arilsulfatasi A (ARSA). Questa alterazione genetica provoca una carenza dell'enzima ARSA all'interno dei lisosomi.

L'ARSA è essenziale per il metabolismo dei solfatidi, componente importante delle membrane cellulari, in particolare delle cellule che formano la mielina (gli oligodendrociti e le cellule di Schwann) nel sistema nervoso centrale (SNC) e nel sistema nervoso periferico (SNP), rispettivamente. Questo accumulo determina un danno microgliale, demielinizzazione progressiva, neurodegenerazione, successiva perdita delle funzioni motorie e cognitive e morte precoce, specialmente nei pazienti con esordio precoce dei sintomi¹⁻⁴.

L'accumulo di solfatidi si verifica anche in altri tessuti e organi come la cistifellea e i reni, causando manifestazioni non neurologiche quali la poliposi della cistifellea⁵⁻⁷ e l'acidosi renale⁸. Anche le cellule di fegato, pancreas, ghiandole surrenali, ovaie e linfonodi possono essere danneggiate (anche se in misura molto minore rispetto alle cellule del SNC e SNP) dall'accumulo di solfatidi; i tessuti con funzioni escretorie sono particolarmente colpiti^{1,5,8,9}.

I pazienti con MLD appaiono sani alla nascita e la diagnosi precoce è di fondamentale importanza per consentire un trattamento efficace. Le procedure diagnostiche includono valutazioni cliniche, misurazioni dell'attività ARSA e dei livelli di solfatidi nelle urine o nel siero, studi di risonanza magnetica (RM), studi di conduzione nervosa e analisi genetica molecolare del gene ARSA. Ma nonostante la disponibilità dei suddetti esami, in assenza di un probando già diagnosticato nella stessa famiglia, la capacità di identificare la malattia prima che compaiano i sintomi o comunque prima che la malattia entri in una fase di rapida progressione è ancora limitata e rimane un bisogno medico ancora insoddisfatto.

In attesa che un test di screening neonatale (NBS) possa rendersi disponibile per garantire che tutti i neonati siano diagnosticati prima dell'esordio clinico della malattia, occorre comunque che i pediatri, che per primi possono intercettare un disturbo dello sviluppo neuromotorio, imparino a conoscere e riconoscere la MLD. Questo è tanto più vero ora che una terapia genica *ex vivo* è stata approvata dall'autorità regolatoria europea (EMA) e altri trattamenti sono disponibili in fase sperimentale, tutti tanto più efficaci quanto più precocemente instaurati (idealmente prima dell'esordio dei sintomi clinici).

La MLD è una malattia panetnica. La scarsità di dati epidemiologici pubblicati rende difficile stimare con precisione la prevalenza globale e l'incidenza della MLD. Alcune stime riportano un'incidenza di MLD di 1 su 100.000 nascite negli Stati Uniti^{10,11}. Uno studio delle varianti geniche nei database di genomica indica un'incidenza stimata di MLD simile alle stime precedenti basate su studi di popolazione¹¹. L'incidenza varia a seconda dei gruppi razziali¹². In Svezia e nello stato di Washington (US) l'incidenza della forma tardo infantile di MLD è stata stimata in

su 40.000^{13,14}. Una revisione sistematica della letteratura europea disponibile ha rivelato circa 1,1 casi (tutti i sottotipi di MLD) per 100.000 nati vivi nell'Unione Europea¹⁵⁻²⁰. Inoltre, studi europei suggeriscono che circa il 40-60% dei pazienti presenti il sottotipo tardo infantile, il 20-40% quello giovanile e circa il 18-20% la forma a insorgenza in età adulta^{3,4,15,16,18}.

Alla fine del 2020 l'EMA ha approvato una terapia genica *ex vivo* per la MLD. Laddove questo trattamento non è approvato, lo standard di cura per MLD è la migliore terapia di supporto. Il prodotto medicinale approvato da EMA consiste in una popolazione arricchita di cellule staminali e progenitriche ematopoietiche (HSPC) trasdotte *ex vivo* con un vettore lentivirale che codifica per il gene umano dell'ARSA. Questo farmaco, frutto di una ricerca italiana effettuata presso l'Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-Tiget) di Milano, è indicato per il trattamento della MLD caratterizzata da mutazioni bialleliche del gene ARSA che comportano una riduzione dell'attività enzimatica di ARSA, nei bambini con forme infantili tardive o giovanili precoci, senza manifestazioni cliniche della malattia e nei bambini con la forma giovanile precoce, con manifestazioni cliniche precoci della malattia, che conservano la capacità di camminare autonomamente e prima dell'inizio del declino cognitivo.

Alla luce di questa nuova opportunità terapeutica e di altri innovativi approcci ancora in fase di sperimentazione ma potenzialmente efficaci, oggi è assolutamente necessario che i medici, e in particolare i pediatri, conoscano l'MLD. I casi sospetti devono essere riferiti tempestivamente a un centro di riferimento esperto in malattie neurometaboliche. Qui si potrà ottenere una diagnosi definitiva, sperabilmente in tempo utile perché la persona affetta possa sottoporsi a un trattamento efficace, approvato o sperimentale, alternativa a una morte certa e in condizioni terribili nei primi anni di vita.

Il meccanismo alla base della malattia

La MLD è caratterizzata da uno spettro di fenotipi a diversa gravità, conseguenza di vari gradi di carenza enzimatica e di una varietà di varianti geniche causative²¹⁻²⁴.

Quando l'attività dell'ARSA è bassa o assente, i solfatidi non degradati si accumulano principalmente nel SNC, nel SNP e in altri organi e tessuti, innescando un processo di progressiva demielinizzazione e causando molteplici sintomi neurologici sia a livello di SNC che di SNP^{1,3,25}. Le cellule colpite nel SNC e nel SNP includono microglia, oligodendrociti, neuroni, cellule di Schwann, macrofagi e monociti^{1,3,25,26}. Altri organi e tessuti interessati includono la cistifellea, i reni, il fegato, il pancreas, le ghiandole surrenali, le ovaie e i linfonodi^{1,5,8,9}.

Come accade per molte altre LSD, non è solo l'accumulo di substrato nelle cellule interessate a causare i danni caratteristici della malattia; il danno che questo accumulo causa alle cellule, infatti, attiva una cascata di eventi biochimici (infiammazione) a loro volta causa di danno alle cellule nervose^{2,27}.

Genetica

La MLD è una malattia a eredità autosomica recessiva. Il gene per l'ARSA umana si trova sul cromosoma 22q13 ed è com-

posto da 8 esoni, che codificano per una proteina precursore di 509 amminoacidi con una variante di 507 amminoacidi²⁸⁻³¹. Sono state descritte alcune centinaia di varianti patogenetiche (mutazioni) del gene ARSA^{28,32}. Le varianti patogene dell'ARSA possono essere suddivise funzionalmente in due grandi gruppi che differiscono per il livello di gravità della malattia che fanno prevedere: alleli nulli (0) associati a poca o nessuna attività enzimatica e alleli R che codificano per ARSA con una certa attività enzimatica residua. L'allele 0 più comune osservato negli individui con MLD a esordio tardo infantile in Europa è c.465+1G>A*, che è una variante del sito di giunzione al confine tra l'esone 2 e l'introne 2 di ARSA^{22,28,33,34}. I più comuni alleli R (c.1283C>T e c.542T>G) sono varianti a singolo nucleotide frequentemente presenti in forme giovanili o adulte di MLD^{22,28,33}. Una variante comune per MLD a esordio precoce in Giappone è p.Gly101Asp, che rappresenta il 45% di tutti gli alleli MLD rilevati nei pazienti giapponesi^{3,4,35}.

Una correlazione genotipo-fenotipo è più evidente per gli individui con genotipi 0/0, situazione che quasi sempre si traduce in MLD a esordio tardo infantile, mentre è molto più complesso predire il fenotipo per i pazienti con 0/R o R/R^{3,36}. È probabile che oltre al genotipo ARSA stesso ci siano altri fattori epigenetici, metabolici o non identificati, che influenzano l'insorgenza dei sintomi della MLD^{36,37}.

Esistono diversi tipi di varianti ARSA, tra cui varianti del sito di giunzione, delezioni, inserzioni e varianti a singolo nucleotide²⁸. Le varianti non senso sono varianti a singolo nucleotide che creano un codone di arresto aberrante che termina prematuramente la proteina³⁸. Le varianti missenso modificano un amminoacido all'interno della proteina, il che può interrompere la funzione³⁸.

La distribuzione dei tipi di varianti è la seguente: missenso (66,5%), non senso (7,5%), sito di giunzione (6,5%)²⁸. Tutte le altre varianti, incluse le delezioni, le inserzioni e le varianti che portano a frameshift, rappresentano il 19,5% dei tipi di alleli²⁸. Alleli che causano una pseudodeficienza (Pd) di ARSA sono presenti in circa lo 0,2-0,5% della popolazione caucasica e possono essere innocui per i portatori ma complicare la diagnosi di MLD e la successiva consulenza genetica^{1,3,36}. L'enzima ARSA nelle pseudodeficienze ha un'attività inferiore al normale³⁶. L'allele Pd più comune nelle popolazioni europee e americane è il c.[1055A>G;*96A>G]⁴. Sebbene non causi di per sé una malattia, la presenza di una variante di ARSA Pd sullo stesso cromosoma di una variante patogena di ARSA (allele ARSA-MLD-Pd) può ridurre l'attività ARSA espressa da tale allele e potenzialmente modificare la gravità del fenotipo MLD nei pazienti con tale genotipo^{39,40}.

Il deficit di saposina B (SapB) è una rara forma di MLD, causata da una variante del gene per la prosaposina (PSAP)^{1,3,41}. Il gene ARSA e l'attività dell'ARSA sono normali nel deficit di SapB, ma l'escrezione di solfatide è ancora elevata¹. Poiché i solfatidi possono essere degradati dall'ARSA solo in presenza di SapB, il suo deficit causa una forma di MLD²⁶. SapB è anche coinvolto nella degradazione di lipidi diversi dal solfatide, ma le manifestazioni della malattia dovute al deficit di SapB sono molto simili alla MLD³.

Biochimica

Il solfatide (3-O-solfato galattocerebroside) è un glicosfingolipide con molteplici funzioni che influenzano il sistema nervoso, il sistema immunitario, la secrezione di insulina, l'emostasi/trombosi e le infezioni batteriche e virali^{42,43}. I solfatidi sono presenti nel SNC e nel SNP e, con livelli più bassi, in altri tessuti tra cui reni, pancreas e dotti biliari³⁴.

Sono sfingolipidi di membrana necessari per la differenziazione, la funzione e la sopravvivenza delle cellule che formano la mielina e per l'organizzazione e il mantenimento delle guaine mieliniche^{25,34,42}. La mielina è la guaina isolante che circonda gli assoni e ha la funzione di facilitare l'efficace conduzione dei segnali elettrici tra le cellule nervose³⁴. I solfatidi sono uno degli sfingolipidi più abbondanti nella mielina e rappresentano circa il 4-6% dei lipidi mielinici^{34,42}.

L'ARSA lisosomiale catalizza la desolfatazione del solfatide^{25,42}. È sintetizzato nel reticolo endoplasmatico rugoso, dove è presente come dimero³⁴. Successivamente l'enzima entra nei lisosomi utilizzando il recettore del mannosio-6-fosfato³⁴. Una volta esposto al pH acido dei lisosomi, l'ARSA si aggrega per formare un ottamero composto da un tetramero di dimeri^{4,34}. La degradazione del solfatide da parte dell'ARSA richiede la presenza di una proteina attivatrice, SapB, necessaria per rendere solubile il solfatide²⁶.

Quando a causa di varianti nel gene ARSA l'enzima funzionale necessario per la degradazione dei solfatidi risulta carente, si verifica un accumulo di solfatidi non degradati nel SNC e nel SNP e negli altri organi in precedenza menzionati^{1,26,34,42-44}. L'accumulo di solfatide negli oligodendrociti e nelle cellule di Schwann porta alla progressiva demielinizzazione con conseguenti manifestazioni neurologiche³⁴.

Quando i solfatidi non degradati si accumulano, il sistema lisosomiale-endosomiale diventa disfunzionale³⁴. Ne consegue che i solfatidi non vengono riciclati correttamente, le strutture mieliniche sono compromesse, la trasmissione degli impulsi nervosi è compromessa e la guaina mielinica è degradata³⁴. Una cascata di reazioni secondarie porta all'apoptosi delle cellule che formano la mielina³⁴.

La demielinizzazione progressiva è la caratteristica principale della MLD, ma anche altri meccanismi probabilmente contribuiscono alla patologia^{2,34}. Danni precoci e gravi alla microglia possono contribuire alla patogenesi della MLD²: i cambiamenti nel fenotipo immunitario della microglia e la morte fagocitaria della microglia nelle aree prelesionali possono precedere la distruzione maggiore degli oligodendrociti e della mielina². Gli oligodendrociti svolgono un ruolo importante nella regolazione delle risposte immunitarie nel SNC e si ritiene che abbiano un complesso cross-talk con la microglia⁴⁵. Con il progredire della MLD, possono verificarsi morte delle cellule neuronali e atrofia cerebrale, con conseguente aumento del volume ventricolare e riduzione del volume della materia grigia cerebrale^{34,46-48}.

Clinica

Da un punto di vista clinico la MLD può essere classificata in diversi sottotipi, caratterizzati da epoche di esordio dei sinto-

mi e gravità e velocità di progressione diverse. Mentre la MLD, come molte altre malattie da accumulo lisosomiale, è descritta spesso come uno spettro continuo di fenotipi di diversa gravità, recenti evidenze indicano che si possono in realtà identificare sottotipi della malattia che differiscono relativamente all'età e ai sintomi di esordio, alla velocità della progressione e alle manifestazioni cliniche. La classificazione corrente individua le forme tardo infantile (LI), giovanile precoce (EJ), giovanile tardiva (LJ) e adulta (A) in base all'età di insorgenza dei sintomi (Tab. I). La MLD a esordio precoce comprende i sottotipi LI ed EJ, mentre la MLD a esordio tardivo comprende i sottotipi LJ e A. Storicamente i sottotipi EJ e LJ sono stati collettivamente indicati come MLD "giovanile", ma dati recenti che descrivono la relazione tra tipo di sintomi all'esordio e decorso della malattia supportano la classificazione basata sull'età di insorgenza e l'esistenza di sottotipi EJ e LJ distinti e clinicamente significativi ^{24,49,50}.

MLD tardo infantile

I pazienti affetti dal sottotipo LI di solito sono portatori di 2 alleli ARSA nulli (genotipo 0/0) e manifestano i primi sintomi prima dei 30 mesi di età. Alcuni pazienti con il sottotipo LI mostrano

un ritardo relativo o una stagnazione nell'acquisizione delle fisiologiche tappe dello sviluppo neuromotorio, specialmente all'età della deambulazione indipendente ^{36,51,52}. Una volta che i sintomi compaiono, spesso come un'anomalia nell'andatura, c'è invariabilmente una rapida regressione psicomotoria e perdita di abilità motorie, linguistiche e cognitive precedentemente acquisite ^{1,3,49,53}. La neuropatia periferica grave è una caratteristica precoce soprattutto della MLD LI ^{1,52,54}. Anche lo strabismo acuto e altri disturbi del movimento oculare, probabilmente correlati al coinvolgimento dei nervi cranici, sono stati recentemente riconosciuti come una manifestazione precoce di MLD LI ⁵⁴. Man mano che la malattia progredisce, i pazienti con il sottotipo LI sviluppano spasticità, convulsioni e problemi di deglutizione. Quasi tutti i pazienti non trattati con il sottotipo LI sperimentano un grave deterioramento motorio e cognitivo tra i 2-4 anni di età ^{53,55-57}. Con la terapia di supporto, i pazienti con il sottotipo LI possono vivere diversi anni in uno stato funzionale altamente compromesso fino alla morte durante la tarda infanzia ⁵⁸.

La forma LI della MLD è quella a più rapida evoluzione ¹. Questa forma è caratterizzata principalmente da una costellazione di sintomi tra cui stagnazione e/o ritardi nella funzione moto-

Tabella I.

Classificazione MLD in base all'età di esordio dei sintomi e principali caratteristiche cliniche.

	MLD ad esordio precoce		MLD ad esordio tardivo	
	Tardo infantile (LI)	Giovanile precoce (EJ)	Giovanile tardiva (LJ)	Adulta (A)
Età all'esordio dei sintomi	≤ 30 mesi	30 mesi - 7 anni	da 7 a < 17 anni	≥ 17 anni
Genotipo				
Attività ARSA				
Principali manifestazioni cliniche	Disturbi dell'andatura, cadute frequenti, riduzione o assenza dei riflessi tendinei profondi, ipotonia, ritardo del linguaggio, regressione mentale, perdita di abilità precedentemente acquisite (come la capacità di stare in piedi e camminare), perdita della parola, atrofia ottica, nistagmo, atassia, quadriparesi spastica progressiva, ritardo dello sviluppo motorio grossolano e fine, convulsioni	Anomalie dell'andatura e posturali, disturbi emotivi e comportamentali (regressione alla fase orale, difficoltà controllo impulsi), atrofia ottica, quadriparesi spastica progressiva, difficoltà di apprendimento (deficit attenzione), atassia e cadute frequenti, tremori, difficoltà a disegnare o scrivere, strabismo, convulsioni, dolori addominali (poliposi colecisti)	Anomalie comportamentali (aggressività, irritabilità), scarso rendimento scolastico (deficit attenzione, problemi di memoria), regressione del linguaggio, disturbi dell'andatura, facile faticabilità, tetraparesi spastica lentamente progressiva, strabismo, convulsioni, dolori addominali (poliposi colecisti)	Regressione mentale, sintomi psichiatrici (depressione, ansia), incontinenza, tetraparesi spastica lentamente progressiva, demenza progressiva, atassia, convulsioni

ria grossolana e fine, strabismo acuto, diminuzione del tono muscolare, atassia, spasticità, perdita della parola e, infine, completa perdita delle funzioni cognitive e motorie^{3,4,59}.

Come detto in precedenza, la MLD LI esordisce prima dei 30 mesi di età, con la maggior parte dei pazienti che manifestano sintomi tra i 12 e i 24 mesi^{1,3}. I segni tipici di presentazione includono disturbi dell'andatura, goffaggine, cadute frequenti, camminata sulle punte e regressione dello sviluppo^{3,4}. I pazienti possono imparare a camminare; tuttavia, iniziano a svilupparsi debolezza alle gambe, diminuzione del tono muscolare e riflessi tendinei profondi depressi³. Molti pazienti con MLD LI (circa il 40-70%) non imparano mai a camminare in modo indipendente^{52,60}. Circa la metà dei bambini con MLD LI può inizialmente presentarsi solo con segni di una neuropatia periferica demielinizante, rapidamente progressiva, precedente il coinvolgimento del SNC⁵⁴.

Circa il 60% dei pazienti con MLD LI presenta sintomi motori o disturbi dell'andatura e il 40% presenta convulsioni⁵⁸. Si sviluppa al contempo una neuropatia periferica con velocità di conduzione nervosa lenta che può portare a dolore alle braccia e alle gambe, goffaggine, debolezza muscolare, deficit sensoriali e riflessi ridotti/assenti^{4,52,54}.

Con il progredire della malattia, il linguaggio, la vista, l'udito e lo sviluppo cognitivo regrediscono mentre si sviluppa la spasticità, con conseguenti difficoltà respiratorie e alimentari^{1,3,4}. Alla fine compaiono anche convulsioni^{3,4}. Oggi la sopravvivenza dei bambini con MLD LI risente molto del miglioramento delle cure palliative^{3,4,24}.

MLD giovanile precoce

I pazienti affetti dal sottotipo EJ in genere sono portatori di un allele nullo e un allele residuo (genotipo 0/R) ma possono anche avere un genotipo R/R. L'esordio dei sintomi si colloca tra i 30 mesi di età e il settimo compleanno. Questi bambini tendono ad avere una progressione iniziale della malattia un po' più lenta o una fase di stagnazione un po' più lunga rispetto ai pazienti con il sottotipo LI. Alcuni pazienti con MLD EJ possono sviluppare un deterioramento cognitivo contemporaneamente al deterioramento motorio (disturbo dell'andatura) come sintomi iniziali⁴⁹. Una volta persa la capacità di camminare, i pazienti con i sottotipi LI ed EJ presentano un declino motorio molto rapido⁵⁶ e i pazienti alla fine sperimentano la perdita di tutte le abilità.

I pazienti con MLD EJ presentano sintomi che includono compromissione motoria grossolana (inciampo o caduta, goffaggine, scarso equilibrio), regressione comportamentale e/o cognitiva, perdita del controllo della vescica e declino delle capacità motorie fini²⁴. Circa il 60% di questi pazienti presenta all'esordio unicamente una compromissione motoria mentre un altro 40% presenta sintomi motori e cognitivi⁴⁹. Se un paziente con MLD EJ presenta inizialmente solo un deterioramento comportamentale o cognitivo isolato, i sintomi motori si verificheranno entro pochi mesi²⁴. I pazienti EJ tendono ad avere una progressione iniziale della malattia un po' più lenta e variabile rispetto ai pazienti con la forma LI. Tuttavia, una volta persa la capacità di camminare, i pazienti EJ progrediscono con la stessa rapidità dei LI⁴⁹.

Il tempo mediano dall'esperienza dei primi sintomi al livello 5 di GMFC-MLD (paziente completamente dipendente dalla sedia a rotelle e richiedente supporto per sedersi) è di 2,7 anni per gli EJ e 1,12 anni per i LI⁶¹.

MLD giovanile tardiva

La MLD a esordio tardivo comprende il sottotipo LJ, con insorgenza dei sintomi che si verifica tra i 7 e i 16 anni di età, e il sottotipo A, in cui i primi sintomi si presentano dopo i 17 anni di età.

I primi sintomi nei pazienti con il sottotipo LJ sono in genere problemi comportamentali o cognitivi^{4,49}. I pazienti con il sottotipo LJ presentano una prognosi variabile; il decorso della malattia è rapido come quello nelle forme a esordio precoce quando i sintomi motori sono presenti all'esordio, mentre i soggetti con il sottotipo LJ con sintomi comportamentali e cognitivi all'esordio hanno una progressione della malattia significativamente più lieve, indipendentemente dalla loro età all'esordio⁴⁹.

Nella forma di MLD LJ, la malattia spesso inizia con deterioramento delle prestazioni scolastiche, regressione del linguaggio, compromissione delle capacità motorie fini e difficoltà emotive o comportamentali^{26,36}. I sintomi della regressione comportamentale e cognitiva associati alla MLD LJ includono deficit di attenzione, riduzione delle prestazioni scolastiche, ritiro sociale e perdita del controllo degli sfinteri²⁴. All'inizio, quando la funzione motoria può essere ancora intatta, possono presentarsi sintomi che fanno pensare a patologie psichiatriche quali schizofrenia, depressione, difficoltà di apprendimento, disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD) e disturbi dello spettro autistico^{3,62}.

Circa il 61% dei pazienti con forma LJ presenta inizialmente solo sintomi cognitivi all'esordio, mentre il 39% presenta inizialmente sintomi motori da soli (13%) o sintomi motori e cognitivi (26%)⁴⁹.

MLD adulta

I pazienti con MLD A presentano frequentemente declino cognitivo, deficit di memoria, disturbi comportamentali (instabilità emotiva) e psichiatrici, atassia, polineuropatia e crisi epilettiche. La progressione della malattia è generalmente molto più lenta rispetto ai sottotipi a esordio precoce e gli esiti sono altamente variabili, con periodi di relativa stabilità e regressione^{1,4}.

I sintomi possono essere notati per la prima volta poco dopo la pubertà (a circa 16 anni di età), ma sono stati segnalati anche in individui di età superiore a 60 anni^{1,3,36,63,64}. I segni iniziali della MLD A spesso includono problemi emergenti nelle prestazioni scolastiche o lavorative³⁶. Gli individui con MLD A possono mostrare volatilità emotiva, pensiero disorganizzato e talvolta sintomi psichiatrici come allucinazioni o deliri (sintomi che possono portare alle diagnosi, errate, di schizofrenia, depressione psicotica o demenza^{26,36,63,64}). Il 72% dei pazienti con MLD A presenta demenza e difficoltà comportamentali, il 16% psicosi e sintomi simili alla schizofrenia, il 28% neuropatia e il 12% convulsioni⁵⁸. I sintomi neurologici come debolezza e spasticità sono i sintomi principali in alcuni pazienti

con MLD A⁴. Talvolta i sintomi neurologici presentati da questi pazienti possono portare a diagnosi errate di sclerosi multipla o di altre malattie neurodegenerative^{4,65,66}. Lievi polineuropatie, goffaggine dei movimenti e incontinenza (urinaria e fecale) possono svilupparsi più tardi nel decorso della malattia^{1,36}.

Con il progredire della malattia possono verificarsi contratture gravi e convulsioni generalizzate insieme ad atrofia ottica e segni di disfunzione bulbare^{4,36}. Nelle fasi finali della malattia, il paziente con MLD A raggiunge uno stato vegetativo^{4,36}.

La MLD A può durare da diversi anni a decenni e il tempo di sopravvivenza mediano dopo la diagnosi è di circa 12 anni, con cicli di malattia documentati che vanno da 1 a 23 anni, che possono variare in base al tipo di variante del gene ARSA^{3,36,63,64}.

Le fasi finali della malattia

Mentre, come si è detto, le manifestazioni cliniche iniziali e il decorso della malattia variano tra le diverse forme di MLD³⁶, al contrario, tutte le forme di MLD alla fine progrediscono verso una fase di rapido declino delle funzioni motoria, sensoriale e cognitiva^{4,49}. Questa fase di rapida progressione inizia con la perdita della deambulazione indipendente e può continuare fino alla perdita di tutte le funzioni motorie grossolane⁴⁹.

Due importanti studi di storia naturale della malattia hanno descritto le manifestazioni cliniche, distinte per sottotipi specifici di MLD, il tipo di sintomi che si presentano all'esordio, i tassi di declino motorio e cognitivo dopo l'insorgenza dei sintomi, il tempo dall'insorgenza dei sintomi alla prima convulsione, il tempo dall'insorgenza dei sintomi al requisito del posizionamento della gastrostomia endoscopica percutanea (PEG), il grado di neuropatia periferica, la probabilità di sviluppare potenziali uditivi patologici, l'evoluzione dell'atrofia e del danno della sostanza bianca cerebrale alla risonanza magnetica (MR)^{24,49}.

Il tasso di progressione della malattia varia da alcuni anni nelle forme LI, EJ e LJ a esordio motorio, a decenni nelle forme LJ a esordio cognitivo e nella forma A^{24,49}.

La sopravvivenza globale dall'esordio della malattia è significativamente più bassa nei pazienti con MLD LI rispetto ai pazienti con MLD EJ²⁴. Nel corso degli ultimi cinquant'anni si è assistito a un aumento della sopravvivenza in tutte le fasce d'età, probabilmente dovuto ai miglioramenti nelle cure di supporto^{58,67,68}. Ciononostante, il tasso di progressione della malattia rimane invariato nei pazienti non trattati; rimangono semplicemente in uno stato gravemente compromesso per un periodo di tempo più lungo^{24,49,58}. L'inserimento di una PEG non sembra prolungare la sopravvivenza nei pazienti con MLD LI²⁴.

La qualità di vita del paziente affetto da MLD e della sua famiglia

La MLD è una malattia con conseguenze devastanti sui pazienti e le loro famiglie e ha un impatto significativo sulla loro qualità di vita (QoL) in termini di salute e di stato emotivo e finanziario⁶⁹. Il tempo spesso prolungato per la diagnosi può essere causa di incertezza e angoscia, a cui segue la diagnosi finale di malattia grave⁷¹, una vera e propria tragedia

per la famiglia, trattandosi di malattia neurodegenerativa per la quale spesso al momento della diagnosi non è più possibile effettuare alcuna terapia trasformativa. La famiglia che si prende cura di un bambino con una grave condizione cronica richiede un sostegno e una cura significativi, e la sfida cambia la QoL per l'intera famiglia^{71,72}. La consulenza genetica e il sostegno psicologico possono essere utili per tutta la famiglia¹. Sono numerose e importanti le limitazioni fisiche e cognitive sperimentate da un paziente con MLD a causa della progressiva perdita della funzione motoria e cognitiva⁷⁰. Più del 90% dei pazienti non può partecipare a molte delle attività della vita quotidiana come camminare o svolgere semplici compiti di igiene personale tra cui pettinare i capelli, fare il bagno, vestirsi, lavarsi i denti o usare una matita⁷⁰. La QoL dei pazienti è compromessa e tutti provano disagio emotivo a causa di problemi di comunicazione e relazioni limitate con coetanei e fratelli⁶⁹. I pazienti tetraplegici o incapaci di comunicare possono provare anche dolore (un altro aspetto grave della malattia) e riduzione della sensibilità tattile⁶⁹ con ulteriori conseguenze sulla QoL.

Prendersi cura di un paziente con MLD può avere un profondo effetto sulla QoL dei caregiver^{60,69-71,73}. I caregiver descrivono la loro esperienza della fase di rapida progressione della MLD nella forma LI come "caduta da una scogliera"⁶⁹. Con il progredire della malattia, i sintomi avanzati o terminali sono particolarmente angoscianti per il caregiver e la famiglia⁷¹. Poiché i bambini che avevano imparato a camminare in modo indipendente in seguito perdono completamente la capacità di camminare, perdono le competenze motorie e cognitive precedentemente raggiunte e potrebbero aver bisogno di essere nutriti tramite PEG, le richieste al caregiver aumentano⁶⁰. I sintomi segnalati come più angoscianti per il genitore includono la completa perdita di comunicazione e cecità del bambino⁷¹.

Le famiglie riferiscono che prendersi cura di un bambino con MLD richiede un grande investimento del loro tempo^{70,73}. I risultati di uno studio recente hanno evidenziato come i caregiver negli Stati Uniti, nel Regno Unito, in Germania, in Belgio e in Norvegia hanno riferito di trascorrere in media 15,2 ore al giorno per fornire assistenza al loro bambino con MLD^{70,73}. I caregiver in Francia hanno riferito di trascorrere altre 5,7 ore al giorno per prendersi cura del loro bambino con MLD oltre al tempo abituale speso per prendersi cura di altri figli sani^{70,73}. I caregiver hanno riportato una media di 30 visite ambulatoriali per il loro bambino con MLD e 4 visite ospedaliere nei 12 mesi precedenti^{70,73}.

Le relazioni familiari possono essere influenzate negativamente a causa della cura di un bambino con MLD^{69-71,73,74}. Si segnalano impatti negativi tra coniugi o partner, tra altri familiari stretti, con altri figli e tra gli altri figli^{70,73}. La MLD ha un impatto infatti anche sui fratelli del bambino colpito⁶⁹⁻⁷¹. Molti fratelli sono indicati come responsabili e supportivi, con buone abilità sociali, ma altri dimostrano problemi comportamentali tra cui depressione, iperattività o aggressività⁷¹.

L'impatto sociale dovuto alla cura di un bambino con MLD è significativo^{70,73}. Le famiglie riferiscono che il tempo e l'attenzione necessari per prendersi cura di un familiare con MLD li-

mitano la capacità del caregiver di avere interazioni sociali⁶⁹. I caregiver sono spesso confinati in casa. Il 94% di loro ha apportato cambiamenti significativi nello stile di vita dopo la diagnosi di MLD in un figlio^{70,73}. Il 62% ha riferito insoddisfazione per la propria vita personale^{70,73}. Il 56% riferisce di aver perso molte delle attività ricreative cui si dedicava in precedenza^{70,73}. I problemi mentali e fisici sono comuni tra i caregiver di bambini con MLD⁷⁰. I sentimenti provati dalle famiglie e da chi si occupa di questi pazienti includono tristezza, paura, depressione, shock, senso di colpa, rimorso, disperazione e preoccupazione⁶⁹. Il 71% degli intervistati in un sondaggio ha avuto problemi di ansia/depressione. I medici riferiscono di osservare che i caregiver si sentono sopraffatti dalle decisioni che devono prendere e che le famiglie provano dolore e senso di colpa mentre guardano il loro bambino “deteriorarsi lentamente e morire”⁶⁹. La cura di un bambino affetto da MLD rende necessari dei profondi cambiamenti dello stile di vita dei caregiver inclusa la perdita di lavoro e, conseguentemente, di reddito^{70,71}. Come capita molto spesso quando si parla di malattie rare o ultra rare, il tempo spesso lungo per arrivare a una diagnosi definitiva di MLD rappresenta un grande peso psicologico e anche economico per le famiglie di individui con MLD⁷¹. I ritardi nella diagnosi possono essere così lunghi che è possibile per una famiglia avere un secondo figlio con MLD prima che la diagnosi sia confermata per il primo figlio; questo influenza ulteriormente in modo negativo la QoL della famiglia nel suo complesso^{61,75}.

Come sospettare e diagnosticare la malattia

L'odissea diagnostica può essere lunga e frustrante per le famiglie dei pazienti con MLD^{71,72,76}. I sintomi iniziali della MLD sono generalmente lievi, insidiosi e aspecifici, il che può causa-

re ritardi diagnostici⁷⁵. Durante il lungo periodo necessario per giungere alla diagnosi definitiva, la malattia può svilupparsi fino alla fase di rapida progressione e le opzioni di trattamento diventano a quel punto limitate⁷⁵. A causa della breve finestra per l'intervento terapeutico è essenziale avviare senza indugio i test biochimici se vi è un sospetto di fondo di leucodistrofia^{26,75,77}. I medici, compresi i pediatri, spesso non riconoscono i primi sintomi della MLD, quindi le famiglie sono indirizzate a specialisti tra cui endocrinologi, ortopedici, psichiatri, fisioterapisti, neurologi e genetisti, con la diagnosi corretta che alla fine di solito proviene da un neurologo o genetista⁷².

Le diagnosi errate ricevute dai pazienti con MLD includono ritardi e disabilità dello sviluppo, problemi di salute mentale e disturbi neurologici e neuromuscolari⁷². Durante le fasi iniziali della MLD LI, i sintomi possono essere simili alla sindrome di Guillain-Barré o alla polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica¹. I pazienti con MLD giovanile sono spesso diagnosticati erroneamente come affetti da un disturbo da deficit di attenzione⁶⁰. I pazienti adulti sono spesso diagnosticati erroneamente come pazienti schizofrenici²⁶.

La MLD può presentarsi con sintomi simili al deficit multiplo di sulfatasi, alla carenza di SapB e ad alcune altre malattie lisosomiali tra cui alcune mucopolisaccaridosi; solo un'analisi dell'attività di specifici enzimi può distinguere tra le suddette malattie⁴. Sono molte le patologie neurodegenerative e neurometaboliche dell'età pediatrica che entrano in diagnosi differenziale con la MLD (Tab. II).

La diagnosi di MLD può essere effettuata attraverso varie procedure diagnostiche tra cui misurazioni dell'attività dell'ARSA e dei livelli di solfatidi, RM cerebrale, studi elettrofisiologici e test genetici molecolari ARSA^{1,4,26}. Quando si sospetta una MLD, i test iniziali possono includere la RM e i test biochimici seguiti da analisi genetiche^{26,77,78}.

Tabella II.

Principali patologie che a causa di sintomi di esordio (neurologici o comportamentali) simili, più o meno in associazione con un'aumentata escrezione urinaria di solfatidi, o con un quadro di leucodistrofia generalizzata alla RM, o con la contemporanea evidenza di una bassa attività di ARSA, possono entrare in diagnosi differenziale con la MLD.

Disturbi degenerativi progressivi che si manifestano dopo un periodo di normale sviluppo + aumentata escrezione urinaria di solfatidi	Disturbi degenerativi progressivi che si manifestano dopo un periodo di normale sviluppo + quadro di leucodistrofia generalizzata alla RM	Bassa attività ARSA in pazienti con sintomi psichiatrici o neurologici	Altre patologie con sintomi neuromotori e neurocomportamentali simili alla MLD
Deficit multiplo di sulfatasi	Adrenoleucodistrofia legata all'X	Pseudo deficit di ARSA	Schizofrenia ad esordio in età infantile
Deficit Saposina B	Malattia di Alexander		Sindrome di Angelman
	Malattia di Krabbe		Sindrome dell'X fragile
	Malattia di Pelizaeus-Merzbacher		Sindrome di Noonan
	Malattia di Canavan		Distrofia muscolare di Becker
	Malattia di Tay-Sachs		Miopatie mitocondriali
	Fucosidosi		Atrofia muscolare spinale
	Malattia di Zellweger		

Risonanza magnetica

Molto spesso, il primo esame che viene effettuato per chiarire un sintomo attribuibile a un disturbo del neurosviluppo è la RM cerebrale (Fig. 1). Poiché questa può risultare negativa anche per molti mesi dopo l'esordio della malattia, il rischio che basarsi su questo unico esame per la diagnosi di MLD possa causare ritardi diagnostici è molto alto^{46,47,77,79}. La RM viene utilizzata per misurare le anomalie cerebrali nella MLD^{1,62,80}.

Elementi evocativi di MLD alla RM cerebrale sono rappresentati da anomalie simmetriche diffuse della sostanza bianca periventricolare con iperintensità su immagini pesate in T2. Nella maggior parte dei pazienti con la forma MLD LI si osserva un iniziale interessamento soprattutto della zona parieto-occipitale; fibre U sottocorticali e sostanza bianca cerebellare sono risparmiate. La sostanza bianca anormale presenta un aspetto cosiddetto "tigroide", a strisce radiali. Il carico di demielinizzazione (quantità di sostanza bianca demielinizzata determinata con tecniche di RM) aumenta in direzione da rostrale a caudale con la progressione della malattia e la perdita della funzione motoria grossolana⁴⁶. Nelle ultime fasi si sviluppa un'importante atrofia cerebrale⁴⁸.

Esami biochimici

La misurazione dell'attività dell'enzima ARSA nelle cellule mononucleate o nei fibroblasti è un test critico nella diagnosi di MLD^{26,78}. L'attività dell'ARSA nei leucociti di pazienti con MLD è generalmente inferiore al 10% dei controlli normali⁴. Può essere misurata con metodi fluorometrici e spettrofotometrici^{26,83}. Occorre tuttavia ricordare che l'attività dell'ARSA da sola non è sufficiente per la diagnosi di MLD perché alcuni individui sani con Pd hanno un'attività enzimatica ARSA nei leucociti che è compresa tra il 5 e il 20% dei controlli normali⁴. L'attività dell'ARSA può essere misurata anche nel liquido amniotico in coltura o nelle cellule dei villi coriali³ e dunque può essere utilizzata per la diagnosi prenatale della malattia.

I solfatidi sono escreti a livelli elevati nelle urine dei pazienti con tutti i tipi di MLD⁴. Questo li rende un importante biomarker per la diagnosi della malattia. Sono misurati sulle urine delle 24 ore o possono essere normalizzati all'escrezione urinaria di creatinina. Sono in fase di ricerca e messa a punto altri metodi per il dosaggio dei livelli di solfatidi mediante cromatografia liquida ad alte prestazioni, spettrometria di massa e cromatografia su strato sottile⁴, nel plasma, nel liquido cerebrospinale e in gocce di sangue essiccato (DBS)^{26,81,82}.

Esami elettrofisiologici

Le misurazioni della velocità di conduzione nervosa motoria e dei potenziali d'azione nervosi sensoriali sono tecniche utili per valutare l'attività e gli even-

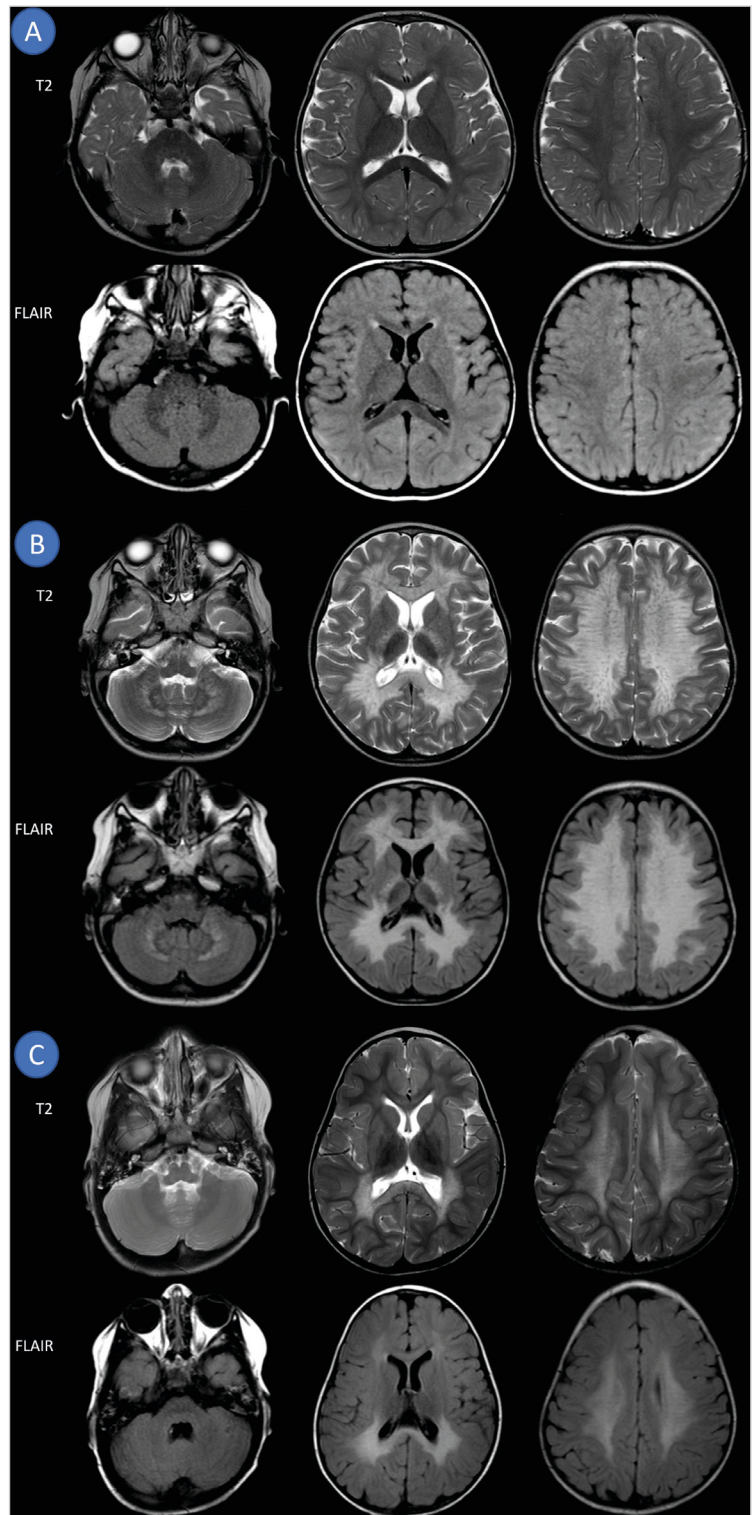


Figura 1.

A: paziente di 15 mesi, sintomatico, con RM encefalo sostanzialmente nella norma (minima iperintensità del corpo calloso). B e C: due bambini MLD LI sintomatici, all'età di 3 anni, con quadro di alterazione florida della sostanza bianca alla RM (iperintensità in T2 con risparmio delle fibre ad U, aspetto tigroide).

tuali danni del SNP dei pazienti con MLD ^{26,36}. Uno studio di storia naturale suggerisce che i potenziali evocati acustici del tronco encefalico (BAER) possano essere un utile biomarker da utilizzare non solo nel follow-up della malattia ma anche nell'interpretazione dei risultati degli studi terapeutici per i pazienti LI, poiché questi pazienti mostrano valori di BAER decisamente anormali man mano che la malattia progredisce ²⁴.

Test genetici

I test genetici possono includere test del singolo gene, pannelli multigenici e sequenziamento dell'intero esoma o dell'intero genoma ⁴. Se si sospetta una MLD e si determina che solo un allele ha una variante del gene ARSA, può essere eseguita un'analisi mirata alla delezione o alla duplicazione genica ⁴. In generale si può affermare che se è forte il sospetto di MLD, il sequenziamento del singolo gene è la tecnica più rapida per la conferma diagnostica.

Il follow-up

Una volta che è stata fatta una diagnosi di MLD, le valutazioni iniziali aiuteranno a stabilire le condizioni di partenza; le successive valutazioni di follow-up sono fondamentali perché possono aiutare nelle decisioni di trattamento e nelle valutazioni delle terapie ⁴.

È necessario un monitoraggio regolare delle manifestazioni della malattia; questo monitoraggio guida gli interventi di terapia fisica e di terapia sintomatica che sono necessariamente diversi nelle diverse fasi della MLD ⁴. Eventi che vengono considerati pietre miliari nella progressione della malattia prima della morte includono il primo attacco epilettico e l'inserimento di una PEG ²⁴.

Screening neonatale e screening familiare

Il trattamento della MLD, approvato o sperimentale che sia, ha tanto maggiori possibilità di successo quanto più precocemente può essere somministrato ai pazienti. Gli studi che hanno portato all'approvazione in Europa, alla fine del 2020, della prima terapia genica *ex vivo* (HSC-GT) per la MLD indicano chiaramente quanto la diagnosi precoce sia fondamentale ^{50,61}. Tuttavia, come detto in precedenza, la diagnosi di MLD in epoca pre-sintomatica o paucisintomatica, in assenza di storia familiare di MLD (precedente fratello affetto noto) è molto complessa, lunga e difficile ⁶¹.

La MLD rappresenta la tipica malattia per la cui diagnosi tempestiva e successivo trattamento efficace sarebbe fondamentale l'istituzione di programmi di screening neonatale (NBS) ⁶¹. Programmi pilota che includono lo NBS per la MLD sono in corso nello Stato di New York, in Germania e Francia; studi di convalida della metodica e dell'algoritmo di screening sono in corso anche in diversi altri paesi in Europa e medio Oriente ^{84,85}.

In attesa che possa essere validato e reso disponibile un test di NBS per la MLD a livello universale, lo screening familiare è importantissimo per la diagnosi precoce di MLD nelle famiglie in cui è stato diagnosticato un paziente precedente ^{61,69,86,87}.

Approcci terapeutici disponibili

Alla fine del 2020, l'EMA ha approvato l'immissione in commercio di atidarsagene autotemcel (arsa-cel), un'innovativa HSC-GH per il trattamento della malattia. Dove arsa-cel non è approvato, lo standard di cura (SOC) è generalmente la miglior cura di supporto (BSC) finalizzata alle cure palliative ^{1,50,88,89}. È inoltre attualmente disponibile in fase di sperimentazione una terapia enzimatica sostitutiva con ARSA ricombinante umana.

La scelta dell'approccio terapeutico è guidata dal tipo di MLD e dal fatto che la malattia abbia iniziato a manifestarsi o sia ancora asintomatica ⁵⁰.

In assenza di linee guida o documenti di consenso riconosciuti a livello globale relativamente allo SOC specifico per la MLD, i medici si affidano alle linee guida europee, statunitensi e del consorzio di esperti della *Global Leukodystrophy Initiative* o dell'*American Academy of Pediatrics*, sviluppate per le leucodistrofie ^{67,68,90,91}.

Terapie di supporto e cure palliative

Le terapie di supporto possono aiutare i pazienti con MLD a mantenere la mobilità, la funzione neuromuscolare e le capacità intellettive il più a lungo possibile fino al loro inevitabile declino ⁴. Il loro scopo è dunque quello di trattare i sintomi e prevenire le complicanze ^{1,50,67,68,90,92}.

Sintomi specifici possono essere trattati farmacologicamente. Ad esempio possono essere usati farmaci antiepilettici per le convulsioni o mio-rilassanti per le contratture muscolari ^{1,4,68,91}. Il reflusso gastro-esofageo e la stitichezza possono essere affrontati mediante interventi medici mirati ^{4,68,91}. Farmaci possono essere necessari anche per trattare il dolore che questi pazienti provano ^{67,68,90,92}. Quando il paziente ha difficoltà a deglutire possono essere utilizzati addensanti, integratori alimentari, modifiche della consistenza e del volume dei pasti e, in ultima analisi, il posizionamento di una PEG, che può alleviare il disagio e aiutare a prevenire la polmonite da aspirazione ^{1,4,68,90,91}.

I pazienti possono richiedere dispositivi di supporto polmonare ^{4,67,68,91,92}. Possono essere necessarie cure odontoiatriche e oculistiche e vaccinazioni per le malattie infantili ^{4,67,68,91} che, se contratte in forma acuta, potrebbero peggiorare le condizioni del paziente.

Le terapie di supporto per il trattamento dei sintomi dovrebbero mirare a creare il massimo comfort possibile sia per il paziente che per i caregiver ^{1,67,68,91,92}. La terapia fisica può essere necessaria per mantenere la funzione muscolare e articolare e preservare il più possibile le abilità motorie dei pazienti ^{68,91,92}. Fondamentale anche la fisioterapia respiratoria. Anche la terapia occupazionale e logopedica possono essere necessarie per ritardare il deterioramento funzionale e mantenere una capacità di comunicazione non verbale ^{68,90,92}. Un ambiente a misura di paziente con grave disabilità, arricchito da dispositivi di comunicazione elettronica, può aiutare a ottimizzare la QoL ^{1,4,68,91}. Possono essere necessari dispositivi di assistenza, tra cui un deambulatore e una sedia a rotelle ^{91,92}. Spesso è necessaria anche una

consulenza psicologica e psichiatrica per il paziente e la famiglia ^{67,68,90,91}.

L'aumento della sopravvivenza nel tempo (dal 1970 a oggi) dei pazienti con MLD non trattati con terapia specifica, approvata o sperimentale, è probabilmente dovuto a miglioramenti nelle cure di supporto ^{58,67,68}. Le cure di supporto possono prolungare la vita gestendo le complicanze dello stadio terminale, comprese le gravi problematiche nutrizionali e le infezioni polmonari, ma la QoL rimane scarsa ^{58,68,93}. Nell'ultimo periodo della vita di questi pazienti possono rendersi necessarie cure palliative ^{50,67,91}. Tutto ciò premesso, sebbene le terapie di supporto possano alleviare i sintomi, tuttavia non influenzano la velocità di progressione della malattia ²⁶.

Il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche

Il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (alloHSCT) rappresenta una terapia efficace per alcuni errori congeniti del metabolismo. L'alloHSCT è un'opzione e persino uno standard di cura per specifiche malattie metaboliche, dove altre terapie disponibili sono meno efficaci.

Il principio alla base dell'utilizzo dell'alloHSCT nelle LSD è la cosiddetta correzione incrociata. L'alloHSCT fornisce al ricevente una fonte continua dello specifico enzima deficitario, prodotto da cellule mieloidi derivate da un donatore, che viene poi assorbito dalle cellule ospiti carenti di enzima ⁹⁴.

Negli ultimi 20 anni, l'alloHSCT è stata l'unica opzione terapeutica clinicamente disponibile per la MLD giovanile ⁹⁵. Il rationale è che le cellule monocitiche del midollo osseo possono attraversare la barriera emato-encefalica, produrre l'enzima mancante, distribuirlo alle cellule circostanti del sistema nervoso e prevenire il processo di demielinizzazione e neurodegenerazione ^{33,44}.

Gli esiti riportati nei pazienti con MLD a esordio precoce (LI ed EJ) trattati con alloHSCT sono stati limitati nel mostrare un impatto sul declino motorio e cognitivo, probabilmente a causa dell'incapacità delle cellule donatrici di produrre livelli sopraffisiologici dell'enzima ARSA.

In effetti, la sostituzione delle cellule ospiti carenti di ARSA con cellule da donatore produttrici di ARSA è troppo lenta rispetto al ritmo di progressione della malattia nei pazienti con MLD a esordio precoce (con un conseguente ritardo stimato in 12-24 mesi prima che il trattamento abbia effetto), rendendo l'alloHSCT inadatto per i pazienti con le forme a esordio precoce di MLD, rapidamente progressive ^{4,54,96-102}.

Alcuni pazienti hanno mostrato una progressione rapida e grave della malattia dopo alloHSCT e si sono deteriorati più rapidamente rispetto ai pazienti non trapiantati, indicando un effetto dell'alloHSCT addirittura scatenante sulla progressione della malattia ¹⁰³. In particolare, sembra che il potenziale beneficio di un alloHSCT nei bambini con la forma LI sia estremamente limitato, anche se trattati nella fase pre-sintomatica, e la spiegazione probabile è che livelli enzimatici sufficienti sono raggiunti solo con ritardo, e i bambini nel frattempo sono già entrati nella fase di malattia rapidamente progressiva ^{3,55,101,104,105}. Nella maggior parte di questi pazienti, il decorso della funzione cognitiva e delle capacità motorie fini,

nonché delle abilità linguistiche, era progressivo anche dopo alloHSCT ^{1,104-107}.

Anche altri autori sottolineano che la sostituzione dei macrofagi tissutali residenti e delle popolazioni di microglia con una progenie derivata da donatori può essere troppo lenta per fermare o rallentare la rapida progressione della malattia ^{95,99}. Dunque l'alloHSCT non sembra essere utile per i pazienti sintomatici o per i pazienti con la forma più aggressiva della malattia, la MLD LI ¹. Risultati incoerenti sono stati riportati per i pazienti asintomatici.

Inoltre, le cellule microgliali innestate a seguito di un alloHSCT producono l'enzima ARSA a livelli normali, insufficienti per produrre una correzione incrociata delle cellule neuronali e gliali difettose all'interno del cervello ⁴⁴.

Gli effetti dell'alloHSCT sulla neuropatia periferica sono stati deludenti e di solito hanno mostrato un peggioramento nel corso degli anni successivi al trapianto ^{103,104}.

L'alloHSCT è anche associato a rischi di complicanze gravi, come il rigetto del trapianto, la malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD), il rischio di mortalità o le complicanze derivate dagli intensi regimi farmacologici di condizionamento ^{104,105}. Inoltre, l'alloHSCT comporta limitazioni dovute alla necessità di trovare un donatore compatibile, ricerca che può ritardare il trattamento e compromettere la probabilità di un esito positivo a causa della progressione della malattia ^{104,105}.

Pertanto, nella pratica clinica, l'alloHSCT è attualmente limitato ai pazienti con forme della malattia a esordio tardivo e a progressione più lenta (LJ e A), e anche qui solo se i pazienti sono pre-sintomatici o pauci-sintomatici, cioè se non mostrano sintomi o al massimo manifestano solo sintomi molto lievi.

La terapia genica

Arsa-cel, una terapia genica che utilizza HSPC del paziente stesso, ha dimostrato di essere efficace nei pazienti con MLD LI presintomatica e nella forma EJ presintomatica e sintomatica precoce ⁵⁰. Al momento arsa-cel è l'unica HSC-GT per il trattamento della MLD che abbia ottenuto la piena autorizzazione all'immissione in commercio in Europa e nel Regno Unito. Utilizza una popolazione autologa arricchita di cellule CD34+ composta da HSPC trasdotte *ex vivo* utilizzando un vettore lentivirale che codifica il DNA complementare ARSA umano (cDNA). Le cellule arricchite con CD34+ contengono HSPC che possono differenziarsi in cellule che formano linee mieloidi tra cui microglia e macrofagi perivascolari nel SNC e macrofagi endoneurali nel SNP (Fig. 2).

Arsa-cel è progettato per correggere il difetto genetico nelle HSPC dei pazienti e nella loro progenie aggiungendo il cDNA ARSA umano sotto il controllo del promotore della fosfogliceralato chinasi umana (PGK), fornendo un'espressione sopraffisiologica di ARSA.

A seguito di un condizionamento mieloablativo del paziente, le sue stesse cellule geneticamente modificate infuse si innestano e ripopolano il compartimento ematopoietico. Sottopopolazioni di HSPC infuse migrano e attecchiscono in vari tessuti, compresi il SNC e il SNP, e secernono l'enzima ARSA funzionale che può essere assorbito dalle cellule circostanti

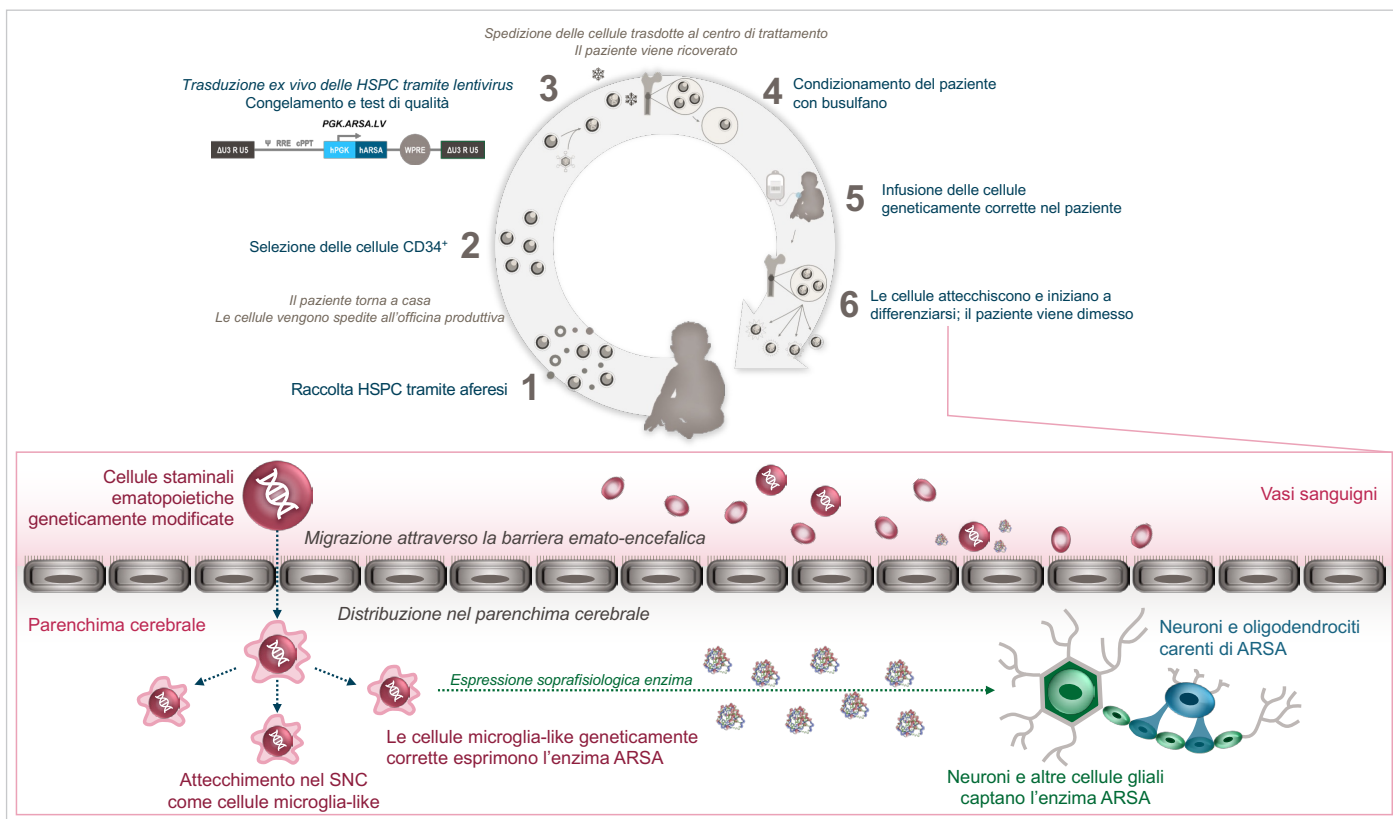


Figura 2.

Processo produttivo di trattamento e meccanismo d'azione di arsa-cel.

che vengono così cross-corrette, prevenendo in questo modo il danno neuronale e microgliale, la neuroinfiammazione, la demielinizzazione dei neuroni nel SNC e nel SNP e la successiva neurodegenerazione, l'atrofia cerebrale e la grave neuropatia periferica^{50,108}.

Gli studi clinici approvativi hanno dimostrato che la HSC-GT con OTL-200 (questo il nome del prodotto sperimentale, attualmente arsa-cel) fornisce benefici nei pazienti con MLD LI presintomatica e MLD EJ presintomatica e sintomatica precoce che sono stati trattati prima della fase di rapida progressione della malattia⁵⁰. I pazienti con MLD LI presintomatica e EJ presintomatica e sintomatica precoce trattati con OTL-200 hanno dimostrato un attecchimento elevato e prolungato delle cellule corrette, un'attività ARSA sostenuta sia nel sangue periferico che nel liquido cerebrospinale (CSF) e la conservazione della funzione cognitiva, oltre a un ritardo dell'evoluzione verso la grave disabilità motoria e una riduzione della demielinizzazione e dell'atrofia cerebrale⁵⁰. Il trattamento, tuttavia, non può alterare il decorso progressivo della malattia se un paziente è già entrato nella fase di rapida progressione della malattia⁵⁰. I pazienti trattati con OTL-200 hanno al momento un follow-up massimo di 7,5 anni⁵⁰. Poiché le cellule staminali della microglia sono cellule auto-rinnovanti è possibile pensare che, una volta corrette con la terapia genica, possano mantenersi funzionali a lungo termine¹⁰⁹⁻¹¹¹.

OTL-200 è stato valutato in 29 pazienti con MLD LI presintomatica e MLD EJ presintomatica e sintomatica precoce⁵⁰ in una serie di studi che comprendeva lo studio clinico pivotale di fase 1/2 (NCT01560182) e i programmi di accesso allargato⁵⁰.

Il trattamento con OTL-200 si è dimostrato generalmente ben tollerato, senza gravi eventi avversi (AE) correlati al trattamento. Gli AE più comuni sono stati dovuti agli effetti del regime di condizionamento. L'AE principale riportato per OTL-200 è la presenza di autoanticorpi per ARSA. Tuttavia i titoli anticorpali sono generalmente bassi e si risolvono spontaneamente o dopo un breve ciclo di rituximab e comunque l'insorgenza transitoria di anticorpi anti-ARSA osservata in alcuni pazienti non ha ostacolato l'attecchimento delle cellule trasdotte né ha ridotto l'attività dell'ARSA e non ha avuto alcun effetto evidente sul beneficio clinico o sulla sicurezza⁵⁰.

Altri approcci terapeutici in corso di sperimentazione

Esistono diversi altri tipi di trattamento in fase sperimentale per la MLD, tra cui altri approcci di terapia genica e la terapia enzimatica sostitutiva (ERT)¹¹².

La terapia enzimatica sostitutiva

La ERT, che utilizza ARSA umana ricombinante (rhARSA), non è efficace se somministrata per via endovenosa in quanto non

può attraversare la barriera emato-encefalica (BBB); tuttavia, sono in fase di studio approcci alternativi che consentiranno l'accesso della proteina enzimatica ricombinante umana al SNC^{1,4}. In particolare sono in corso studi clinici per cercare di aggirare il problema dell'impermeabilità della BBB attraverso la somministrazione intratecale dell'enzima¹¹³⁻¹¹⁵. I dati preliminari indicano un potenziale parziale effetto sulla progressione della malattia in pazienti con MLD LI che hanno ricevuto la dose più alta di rhARSA per via intratecale in uno studio clinico di fase 1/2 (NCT01510028, Shire, Takeda); un follow-up più lungo e dati su un maggior numero di pazienti potranno chiarire meglio il reale potenziale di questo approccio terapeutico¹¹⁶.

Molecole di ARSA fuse al dominio dell'immunoglobulina G dei recettori umani dell'insulina o della transferrina (ArmaGen, Inc.) sono in fase di sperimentazione in studi preclinici nella speranza di migliorare la penetrazione cerebrale della proteina enzimatica^{26,117,118}.

Altri approcci di terapia genica

Sono attualmente in fase di studio ulteriori terapie geniche che utilizzano tecnologie *in vivo* ed *ex vivo*^{108,119-121}.

L'approccio di terapia genica *in vivo* utilizza spesso una forma di virus adeno-associato (AAV)¹¹⁹. La terapia con AAV è risultata efficace in vari modelli murini di MLD^{1,122-129}.

I vettori AAVhARSA sono in fase di test in primati non umani^{1,130,131}.

Uno studio clinico per determinare la sicurezza e l'efficacia di una terapia genica intracerebrale è stato eseguito somministrando AAVrh.10hARSA a bambini con forme a esordio precoce di MLD (NCT01801709)^{132,133}. Se da un lato livelli di espressione dell'attività di ARSA misurabili sono stati rilevati nel liquido cerebrospinale, d'altra parte però i bambini hanno sperimentato lo stesso livello di deterioramento di quelli con il decorso naturale della MLD¹³⁶.

Conclusioni

La MLD è una malattia neurometabolica genetica rarissima. L'assenza o la carenza geneticamente determinate dell'enzima ARSA (che in condizioni fisiologiche metabolizza il 3-solfato cerebrosidico, solfatide, un componente importante della guaina mielinica degli oligodendrociti nel SNC e delle cellule di Schwann nel SNP) determina il conseguente accumulo di solfatidi nei lisosomi di oligodendrociti, cellule di Schwann e neuroni (oltre che a livello di colecisti, fegato e reni) da cui dipende la demielinizzazione progressiva del SNC e del SNP e, dal punto di vista clinico, il deterioramento progressivo e per lo più rapido delle funzioni neurocognitive e motorie.

Nonostante l'estrema rarità della malattia, la disponibilità di un trattamento efficace approvato dalle autorità regolatorie europee e di alcuni trattamenti in fase di sperimentazione rende necessario non solo diagnosticare la malattia, ma anche diagnosticarla in fase presintomatica o almeno sintomatica precoce, al fine di dare ai pazienti l'opportunità di poter usufruire dei trattamenti attualmente disponibili o di essere inclusi in un trial clinico.

Una diagnosi della malattia in fase presintomatica, in attesa che un programma di NBS venga reso disponibile a tutti i neonati, è oggi possibile solo sottoponendo a screening familiare i fratelli di un bambino precedentemente diagnosticato in quanto sintomatico. Tale pratica, che dovrebbe essere comune a tutte le patologie genetiche ereditabili, per la MLD è anche urgente, dal momento che dopo una prima fase (di durata variabile) di normale sviluppo neuromotorio e una successiva fase di mancata progressione dello sviluppo (stagnazione), la malattia entra in una fase di rapida progressione che non è più passibile di un trattamento efficace.

In assenza di probandi nella stessa famiglia, la diagnosi di MLD dev'essere sospettata sulla base dei sintomi clinici che tuttavia sono aspecifici e comuni a molte malattie neurometaboliche e neurodegenerative. A prescindere dall'evidenza di sintomi motori e comportamentali indicativi di una patologia del neurosviluppo, un elemento importante che caratterizza la MLD in fase precoce, è l'evenienza, dopo una prima fase di normale acquisizione delle fisiologiche tappe dello sviluppo neuromotorio, di una fase di stagnazione durante la quale il bambino sembra non progredire e anzi inizia a discostarsi dai percentili^{135,136} delle tappe precedentemente raggiunte. Anche questo solo elemento dovrebbe indurre il pediatra a un monitoraggio attento del bambino e a brevi intervalli di tempo, e a un suo invio tempestivo presso un centro di riferimento per malattie neurometaboliche. Qui il sospetto clinico deve essere confermato mediante esami di laboratorio e strumentali, tra cui l'identificazione di un'elevata escrezione urinaria di solfatidi, il dosaggio dell'attività dell'ARSA, la RM cerebrale (ricordando che la possibile negatività di questo esame, nelle fasi in cui il bambino è ancora paucisintomatico, non permette di escludere la malattia), l'identificazione di varianti patologiche ARSA bialleliche su test genetici molecolari e alcuni specifici esami elettrofisiologici.

Una volta effettuata la diagnosi, nei bambini con forme LI o EJ senza manifestazioni cliniche della malattia e nei bambini con la forma EJ con manifestazioni cliniche precoci della malattia, che conservano la capacità di camminare autonomamente e prima dell'inizio del declino cognitivo, oggi è possibile proporre una HSC-GT in grado di modificare l'evoluzione e la storia naturale della malattia.

Va precisato che indipendentemente dalla disponibilità di un trattamento approvato o sperimentale per il bambino stesso, la diagnosi precoce di un caso di MLD in una famiglia presenta comunque diversi altri importanti vantaggi e dunque va sempre perseguita. Prima di tutto per la possibilità di offrire una consulenza genetica ai genitori, cui potrà conseguire una consapevole pianificazione di eventuali future gravidanze. Inoltre, come detto, l'aver identificato un paziente in una famiglia determina la possibilità di accelerare un percorso diagnostico in fase presintomatica per fratelli più piccoli, già nati ma che ancora non presentano sintomi, così che questi, se affetti, possano essere avviati a un trattamento tempestivo, dove disponibile. Senza dimenticare l'opportunità di sottoporre tempestivamente i bimbi malati e già sintomatici ai trattamenti palliativi più appropriati per migliorarne quanto più possibile la QoL (e quella delle loro famiglie), laddove non siano più eleggibili per un trattamento.

Infine va ricordata la possibilità di indirizzare la famiglia e il bambino stesso verso uno specifico percorso di presa in carico presso un centro specializzato, con conseguente sollievo, almeno parziale, per la famiglia.

Conoscere la MLD non è fondamentale solo affinché il medico, di fronte a una situazione riferibile a un disturbo del neurosviluppo, sia in grado di porre un sospetto clinico e avviare tempestivamente una serie di accertamenti volti a chiarire l'origine del disturbo presentato dal paziente. La consapevolezza della rapida progressione della malattia, della sua gravità e dell'urgenza della diagnosi in relazione alla disponibilità di un trattamento efficace, deve indurre il medico a escludere prima di tutto le possibili malattie per le quali è disponibile un trattamento efficace e solo successivamente a dedicarsi allo studio di altre potenziali cause di quello specifico disturbo del neurosviluppo, rispetto alle quali o non è disponibile una terapia o un ritardo di qualche mese nella diagnosi non avrebbe effetti così gravi come nel caso della MLD.

Bibliografia

- van Rappard DF, Boelens JJ, Wolf NI. Metachromatic leukodystrophy: disease spectrum and approaches for treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015;29:261-273.
- Bergner CG, van der Meer F, Winkler A, et al. Microglia damage precedes major myelin breakdown in X-linked adrenoleukodystrophy and metachromatic leukodystrophy. *Glia* 2019;67:1196-1209.
- Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. Metachromatic leukodystrophy-An Update. *Neuropediatrics* 2010;41:1-6.
- Gomez-Ospina N. Arylsulfatase A deficiency. In: *GeneReviews* [Internet]. Seattle, WA: University of Washington, Seattle 1993-2021.
- Kim J, Sun Z, Ezekian B, et al. Gallbladder abnormalities in children with metachromatic leukodystrophy. *J Surg Res* 2017;208:187-191.
- van Rappard DF, Boelens JJ, van Egmond ME, et al. Efficacy of hematopoietic cell transplantation in metachromatic leukodystrophy: the Dutch experience. *Blood* 2016;127:3098-3101.
- Stevens JP, Dakshinamoorthy J, Gill AE et al. Undiagnosed metachromatic leukodystrophy presenting as severe gastrointestinal bleeding and cholestasis from hemophilia. *JPGN Reports* 2021;2:e122.
- Lorioli L, Cicalese MP, Silvani P, et al. Abnormalities of acid-base balance and predisposition to metabolic acidosis in Metachromatic Leukodystrophy patients. *Mol Genet Metab* 2015;115:48-52.
- van Rappard DF, Bugiani M, Boelens JJ, et al. Gallbladder and the risk of polyps and carcinoma in metachromatic leukodystrophy. *Neurology* 2016;87:103-111.
- Bonkowsky JL, Wilkes J, Bardsley T, et al. Association of diagnosis of Leukodystrophy with race and ethnicity among pediatric and adolescent patients. *JAMA Network Open* 2018;1:e185031.
- Soderholm HE, Chapin AB, Bayrak-Toydemir P, et al. Elevated Leukodystrophy incidence predicted from genomics databases. *Pediatr Neurol* 2020;111:66-69.
- Holve S, Hu D, McCandless SE. Metachromatic Leukodystrophy in the Navajo: fallout of the american-indian wars of the nineteenth century. *Am J Med Genet* 2001;101:203-208.
- Gustavson KH, Hagberg B. The incidence and genetics of Metachromatic Leukodystrophy in Northern Sweden. *Acta Paediatr Scand* 1971;60:585-590.
- Farrell DF. Heterozygote detection in MLD. Allelic mutations at the ARA locus. *Hum Genet* 1981;59:129-134.
- Heim P, Claussen M, Hoffmann B, et al. Leukodystrophy incidence in Germany. *Am J Med Genet* 1997;71:475-478.
- Poorthuis BJHM, Wevers RA, Kleijer VJ, et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999;105:151-156.
- Pinto R, Caseiro C, Lemos M, et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet* 2004;12:87-92.
- Ługowska A, Ponińska J, Krajewski P, et al. Population carrier rates of pathogenic ARSA gene mutations: is Metachromatic Leukodystrophy underdiagnosed? *PLoS ONE* 2011;6:e20218.
- Hult M, Darin N, von Döbeln U, et al. Epidemiology of lysosomal storage diseases in Sweden. *Acta Paediatr* 2014;103:1258-1263.
- Stellitano LA, Winstone AM, van der Knaap MS, et al. Leukodystrophies and genetic leukoencephalopathies in childhood: a national epidemiological study. *Dev Med Child Neurol* 2016;58:680-689.
- Coulter-Mackie MB, Gagnier L. Spectrum of mutations in the arylsulfatase A gene in a Canadian DNA collection including two novel frameshift mutations, a new missense mutation (C488R) and an MLD mutation (R84Q) in cis with a pseudo deficiency allele. *Mol Genet Metab* 2003;79:91-98.
- Biffi A, Cesani M, Fumagalli F, et al. Metachromatic leukodystrophy mutation analysis provides further evidence of genotype-phenotype correlation. *Clin Genet* 2008;74:349-357.
- Wang RY, Bodamer OA, Watson MS, et al. Lysosomal storage diseases: diagnostic confirmation and management of presymptomatic individuals. *Genet Med* 2011;13:457-484.
- Fumagalli F, Zambon AA, Rancoita PMV, et al. Metachromatic leukodystrophy: a single-center longitudinal study of 45 patients. *J Inher Metab Dis* 2021;44:1151-1164.
- Frati G, Luciani M, Meneghini V, et al. Human iPSC-based models highlight defective glial and neuronal differentiation from neural progenitor cells in metachromatic leukodystrophy. *Cell Death Dis* 2018;9:698-713.
- Shaimardanova AA, Chulpanova DS, Solovyeva VV, et al. Metachromatic Leukodystrophy: diagnosis, modelling, and treatment approaches. *Front Med* 2020;7:576221.
- Sevin C, Aubourg P, Cartier N. Enzyme, cell and gene-based therapies for metachromatic leukodystrophy. *J Inher Metab Dis* 2007;30:175-183.
- Cesani M, Lorioli L, Grossi S, et al. Mutation Update of ARSA and PSAP genes causing Metachromatic Leukodystrophy. *Hum Mutat* 2016;37:16-27.
- <https://omim.org/entry/250100>. Accessed Nov 24, 2021.
- https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000478.3. Accessed Dec 22, 2021.
- <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A0S2Z373>. Accessed Dec 22, 2021.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?gr=1&term=ARSA%5Bgene%5D+and+MLD> Accessed September 28, 2022.
- Biffi A, Lucchini G, Rovelli A, et al. Metachromatic leukodystrophy: an overview of current and prospective treatments. *Bone Marrow Transplant* 2008;42(suppl 2):S2-S6.
- Patil SA, Maegawa GH. Developing therapeutic approaches for metachromatic leukodystrophy. *Drug Des Devel Ther* 2013;7:729-745.
- Eto Y, Kawame H, Hasegawa Y, et al. Molecular characteristics in Japanese patients with lipidosis: novel mutations in metachromatic leukodystrophy and Gaucher disease. *Mol Cell Biochem* 1993;119:179-184.
- von Figura K, Jaeken J. Metachromatic leukodystrophy. In: Scriver CR, Valle D, WS S, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*. Mac Graw-Hill 2001:3695-3724.
- Elgun S, Waibel J, Kehrer C, et al. Phenotypic variation between siblings with Metachromatic Leukodystrophy. *Orphanet J Rare Dis* 2019;14:136-145.
- <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Nonsense-Mutation>. Accessed Jun 1, 2021
- Luzi P, Rafi MA, Zhi Rao H, et al. Sixteen novel mutations in the arylsulfatase A gene causing metachromatic leukodystrophy. *Gene* 2013;530:323-328.
- Regis S, Corsolini F, Stroppiano M, et al. Contribution of arylsulfatase A mutations located on the same allele to enzyme activity reduction and metachromatic leukodystrophy severity. *Hum Genet* 2002;110:351-355.
- <https://www.omim.org/entry/249900>. Accessed Dec 21, 2021.
- Blomqvist M, Zetterberg H, Blennow K, et al. Sulfatide in health and disease. The evaluation of sulfatide in cerebrospinal fluid as a possible biomarker for neurodegeneration. *Mol Cell Neurosci* 2021;116:103670.
- Takahashi T, Suzuki T. Role of sulfatide in normal and pathological cells and tissues. *J Lipid Res* 2012;53:1437-1450.
- Wolf NI, Breur M, Plug B, et al. Metachromatic leukodystrophy and transplantation: remyelination, no cross-correction. *Ann Clin Transl Neurol* 2020;7:169-180.
- Peferoen L, Kipp M, van der Valk P, et al. Oligodendrocyte-microglia cross-talk in the central nervous system. *Immunology* 2014;141:302-313.
- Groeschel S, Dalci C, Clas P, et al. Cerebral gray and white matter changes and clinical course in metachromatic leukodystrophy. *Neurology* 2012;79:1662-1670.

- 47 Eichler F, Grodd WW, Grant E, et al. Metachromatic Leukodystrophy: A Scoring System for Brain MR imaging observations. *Am J Neuroradiol* 2009;30:1893-1897.
- 48 Groeschel S, Kehrler C, Engel C, et al. Metachromatic leukodystrophy: natural course of cerebral MRI changes in relation to clinical course. *J Inher Metab Dis* 2011;34:1095-1102.
- 49 Kehrler C, Elgun S, Raabe C, et al. Association of age at onset and first symptoms with disease progression in patients with metachromatic leukodystrophy. *Neurology* 2021;96:e255-e266.
- 50 Fumagalli F, Calbi V, Natali Sora MG, et al. Lentiviral haematopoietic stem-cell gene therapy for early-onset metachromatic leukodystrophy: long-term results from a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial and expanded access. *Lancet* 2022;399:372-383.
- 51 Zlotogora J, Costeff H, Elian E. Early motor development in metachromatic leukodystrophy. *Arch Dis Child* 1981;56:309-310.
- 52 Bindu PS, Mahadevan A, Taly AB, et al. Peripheral neuropathy in metachromatic leukodystrophy. A study of 40 cases from south India. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1698-1701.
- 53 Kehrler C, Groeschel S, Kustermann-Kuhn B, et al. Language and cognition in children with metachromatic leukodystrophy: onset and natural course in a nationwide cohort. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:18-26.
- 54 Beerepoot S, Nierkens S, Boelens JJ, et al. Peripheral neuropathy in metachromatic leukodystrophy: current status and future perspective. *Orphanet J Rare Dis* 2019;14:24-36.
- 55 Kehrler C, Blumenstock G, Raabe C, et al. Development and reliability of a classification system for gross motor function in children with metachromatic leukodystrophy. *Dev Med Child Neurol* 2011;53:156-160.
- 56 Kehrler C, Blumenstock G, Gieselmann V, et al. The natural course of gross motor deterioration in metachromatic leukodystrophy. *Dev Med Child Neurol* 2011;53:850-855.
- 57 Sessa M, Lorioli L, Fumagalli F, et al. Lentiviral haematopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet* 2016;388:476-487.
- 58 Mahmood A, Berry J, Wenger DA, et al. Metachromatic Leukodystrophy: a case of triplets with the late infantile variant and a systematic review of the literature. *J Child Neurol* 2010;25:572-580.
- 59 Beerepoot S, Wolf NI, Wehner K, et al. Acute-onset paralytic strabismus in toddlers is important to consider as a potential early sign of late-infantile Metachromatic Leukodystrophy. *Eur J Paediatr Neurol* 2022;37:87-93.
- 60 Harrington M, Whalley D, Twiss J, et al. Insights into the natural history of metachromatic leukodystrophy from interviews with caregivers. *Orphanet J Rare Dis* 2019;14:89-99.
- 61 Jones S, Chakrapani A, Vijay S, et al. Poster presented at: ICIEM (International Congress of Inborn Errors of Metabolism) Sydney, Australia 2021.
- 62 van Rappard DF, de Vries ALC, Oostrom KJ, et al. Slowly progressive psychiatric symptoms: think Metachromatic Leukodystrophy. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2018;57:74-76.
- 63 Hageman ATM, Gabreels FJM, de Jong JGN, et al. Clinical symptoms of adult Metachromatic Leukodystrophy and Arylsulfatase A pseudodeficiency. *Arch Neurol* 1995;52:408-413.
- 64 Rauschka H, Colsch B, Baumann N, et al. Late-onset metachromatic leukodystrophy. Genotype strongly influences phenotype. *Neurology* 2006;67:859-863.
- 65 Wu C, Sun Q, Fan D. Serial Magnetic Resonance Imaging changes in a patient with late-onset cobalamin C disease with a misdiagnosis of Metachromatic Leukodystrophy. *JAMA Neurol* 2018;75:374-375.
- 66 Xu L, Zhong M, Wang Y, et al. Case Report: novel Arylsulfatase A (ARSA) gene mutations in a patient with adult-onset Metachromatic Leukodystrophy misdiagnosed as Multiple Sclerosis. *Front Neurol* 2020;11:576881.
- 67 Bonkowsky JL, Keller S. Leukodystrophies in children: diagnosis, care, and treatment. *Pediatrics* 2021;148:e2021053126.
- 68 van Haren K, Bonkowsky JL, Bernardet G, et al. Consensus statement on preventive and symptomatic care of leukodystrophy patients. *Mol Genet Metab* 2015;114:516-526.
- 69 Eichler FS, Cox TM, Crombez E, et al. Metachromatic Leukodystrophy: an assessment of disease burden. *J Child Neurol* 2016;31:1457-1463.
- 70 Pang F, Campbell L, Howie K, et al. Quality of life of patients and their caregivers with metachromatic leukodystrophy in US, UK, Germany and France. Poster presented at: WORLD Symposium 2021.
- 71 Ammann-Schnell L, Groeschel S, Kehrler C, et al. The impact of severe rare chronic neurological disease in childhood on the quality of life of families-a study on MLD and PCH2. *Orphanet J Rare Dis* 2021;16:211.
- 72 Eichler F, Pang F, Howie K, et al. Initial signs and symptoms of Metachromatic Leukodystrophy: a caregiver perspective. Poster presented at: WORLD Symposium 2021.
- 73 Sevin C, Barth M, Wilds A, et al. An international study of caregiver-reported burden and quality of life in metachromatic leukodystrophy. *Orphanet J Rare Dis* 2022;17:329.
- 74 Pang F. Quality of life and caregiver burden in metachromatic leukodystrophy: results from a cross-national study of 6 countries. Presented at: WORLD Symposium, San Diego 2022.
- 75 Eichler F, Sevin C, Barth M, et al. Caregiver perspective on the initial signs and symptoms of Metachromatic Leukodystrophy. *Orphanet J Rare Dis* 2022.
- 76 Richards J, Korgenski EK, Srivastava R, et al. Costs of the diagnostic odyssey in children with inherited leukodystrophies. *Neurology* 2015;85:1167-1170.
- 77 Pekgul F, Eroglu-Ertugrul NG, Bekircan-Kurt CE, et al. Comprehensive clinical, biochemical, radiological and genetic analysis of 28 Turkish cases with suspected metachromatic leukodystrophy and their relatives. *Mol Genet Metab Rep* 2020;25:100688.
- 78 Lorioli L, Casani M, Regis S, et al. Critical issues for the proper diagnosis of Metachromatic Leukodystrophy. *Gene* 2014;537:348-351.
- 79 Spinner M, Burton J, Baker J, et al. A normal MRI leading to a delayed diagnosis of Metachromatic Leukodystrophy. *Mol Genet Metab* 2021;132:S10.
- 80 van Egmond ME, Pouwels PJW, Boelens JJ, et al. Improvement of white matter changes on neuroimaging modalities after stem cell transplant in Metachromatic Leukodystrophy. *JAMA Neurol* 2013;70:779-782.
- 81 í Dali C, Barton NW, Farah MH, et al. Sulfatide levels correlate with severity of neuropathy in metachromatic leukodystrophy. *Ann Clin Transl Neurol* 2015;2:518-533.
- 82 Hong X, Daiker J, Sadilek M, et al. Toward newborn screening of metachromatic leukodystrophy: results from analysis of over 27,000 newborn dried blood spots. *Genet Med* 2020;23:555-561.
- 83 Morena F, Argentati C, Acquati S, et al. Toward reference intervals of ARSA activity in the cerebrospinal fluid: implication for the clinical practice of Metachromatic Leukodystrophy. *J Appl Lab Med* 2021;6:354-366.
- 84 <https://midnewbornscreening.org/>. Accessed Dec 7, 2021.
- 85 Schwarz M, Oliva P, Mechtler T, et al. Newborn screening for Metachromatic Leukodystrophy in Northern Germany - A prospective study. Poster presented at: WORLD Symposium 2021.
- 86 Hong X, Kumar AB, Daiker J, et al. Leukocyte and Dried Blood Spot Arylsulfatase A assay by Tandem Mass Spectrometry. *Anal Chem* 2020;92:6341-6348.
- 87 Bonkowsky JL, Nelson C, Kingston JL, et al. The burden of inherited leukodystrophies in children. *Neurology* 2010;75:718-725.
- 88 <https://rarediseases.org/rare-diseases/metachromatic-leukodystrophy/>. Accessed Nov 24, 2021.
- 89 <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/metachromatic-leukodystrophy/diagnosis-treatment/drc-20354734>. Accessed Nov 24, 2021.
- 90 Keller SR, Mallack EJ, Rubin JP, et al. Practical approaches and knowledge gaps in the care for children with Leukodystrophies. *J Child Neurol* 2021;36:65-78.
- 91 Adang LA, Sherbini O, Ball L, et al. Revised consensus statement on the preventive and symptomatic care of patients with leukodystrophies. *Mol Genet Metab* 2017;122(1-2):18-32.
- 92 <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/metachromatic-leukodystrophy/diagnosis-treatment/drc-20354734>. Accessed Nov 24, 2021.
- 93 Helleman Itzhaki M, Singer P. Advances in medical nutrition therapy: parenteral nutrition. *Nutrients* 2020;12:717-729.
- 94 Di Ferrante N, Nichols BL, Donnelly PV, et al. Induced degradation of glycosaminoglycans in Hurler's and Hunter's syndromes by plasma infusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68:303-307.
- 95 Peters C, Steward CG; National Marrow Donor Program; International Bone Marrow Transplant Registry; Working Party on Inborn Errors, European Bone Marrow Transplant Group. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant* 2003;31:229-239.

- ⁹⁶ Cable C, Kinkel RS, Lehky TJ, et al. Unrelated umbilical cord blood transplant for juvenile metachromatic leukodystrophy: a 5-year follow-up in three affected siblings. *Mol Genet Metab* 2011;102:207-209.
- ⁹⁷ de Hosson LD, van de Warrenburg BPC, Preijers FWMB, et al. Adult metachromatic leukodystrophy treated by allo-SCT and a review of the literature. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:1071-1076.
- ⁹⁸ Ding XQ, Bley A, Kohlshutter A, et al. Long-term neuroimaging follow-up on an asymptomatic juvenile metachromatic leukodystrophy patient after hematopoietic stem cell transplantation: evidence of myelin recovery and ongoing brain maturation. *Am J Med Genet A* 2012;158A:257-260.
- ⁹⁹ Krägeloh-Mann, Groeschel S, Kehrler C, et al. Juvenile metachromatic leukodystrophy 10 years post transplant compared with a non-transplanted cohort. *Bone Marrow Transplantation* 2013;48:369-375.
- ¹⁰⁰ Smith NJ, Marcus RE, Sahakian BJ, et al. Haematopoietic stem cell transplantation does not retard disease progression in the psycho-cognitive variant of late-onset metachromatic leukodystrophy. *J Inher Metab Dis* 2010;33(S)3:S471-5.
- ¹⁰¹ Solders M, Martin DA, Andersson C, et al. Hematopoietic SCT: a useful treatment for late metachromatic leukodystrophy. *Bone Marrow Transplant* 2014;49:1046-1051.
- ¹⁰² Tan EY, Boelens JJ, Jones SA, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Inborn Errors of Metabolism. *Front Pediatr* 2019;7:433.
- ¹⁰³ Beschle J, Döring M, Kehrler C, et al. Early clinical course after hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile metachromatic leukodystrophy. *Mol Cell Pediatr* 2020;7:12-20.
- ¹⁰⁴ Boucher AA, Miller W, Shanley R, et al. Long-term outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for metachromatic leukodystrophy: the largest single-institution cohort report. *Orphanet J Rare Dis* 2015;10:94-112.
- ¹⁰⁵ Martin HR, Poe MD, Provenzale JM, et al. Neurodevelopmental outcomes of umbilical cord blood transplantation in Metachromatic Leukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:616-624.
- ¹⁰⁶ Boelens JJ, Prasad VK, Tolar J, et al. Current international perspectives on Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Inherited Metabolic Disorders. *Pediatric Clin North Am* 2010;57:123-145.
- ¹⁰⁷ Bredius RGM, Laan LAEM, Lankester AC, et al. Early marrow transplantation in a pre-symptomatic neonate with late infantile metachromatic leukodystrophy does not halt disease progression. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:309-310.
- ¹⁰⁸ Biffi A, Montini E, Lorioli L, et al. Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits Metachromatic Leukodystrophy. *Science* 2013;341:1233158.
- ¹⁰⁹ Sagoo P, Gaspar HB. The transformative potential of HSC gene therapy as a genetic medicine. *Gene Ther* 2021.
- ¹¹⁰ Capotondo A, Milazzo R, Politi LS, et al. Brain conditioning is instrumental for successful microglia reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:15018-15023.
- ¹¹¹ Muzio L, Viotti A, Martino G. Microglia in neuroinflammation and neurodegeneration: from understanding to therapy. *Front Neurosci* 2021;15:742065.
- ¹¹² <https://clinicaltrials.gov/search/?term=Metachromatic%20Leukodystrophy>. Accessed Jan 12, 2022.
- ¹¹³ <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01510028?term=Metachromatic+Leukodystrophy&draw=1&rank=2>. Accessed Dec 29, 2021.
- ¹¹⁴ <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01887938?term=Metachromatic+Leukodystrophy&draw=1&rank=3>. Accessed Dec 29, 2021.
- ¹¹⁵ <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03771898?term=Metachromatic+Leukodystrophy&draw=1&rank=1>. Accessed Dec 29, 2021.
- ¹¹⁶ í Dali C, Sevin C, Krägeloh-Mann I, et al. Safety of intrathecal delivery of recombinant human arylsulfatase A in children with metachromatic leukodystrophy: results from a phase 1/2 clinical trial. *Mol Genet Metab* 2020;131(1-2):235-244.
- ¹¹⁷ Boado RJ, Lu JZ, Huiet EKW, et al. Pharmacokinetics and brain uptake in the Rhesus Monkey of a fusion protein of Arylsulfatase A and a monoclonal antibody against the human insulin receptor. *Biotechnol Bioeng* 2013;110:1456-1465.
- ¹¹⁸ Hui EKW, Lu JZ, Boado RJ, et al. Preclinical studies of a brain penetrating IgG Trojan horse-arylsulfatase fusion protein in the metachromatic leukodystrophy mouse. *Mol Genet Metab* 2019;126:S77.
- ¹¹⁹ Penati R, Fumagalli F, Calbi V, et al. Gene therapy for lysosomal storage disorders: recent advances for metachromatic leukodystrophy and mucopolysaccharidosis I. *J Inher Metab Dis* 2017;40:543-554.
- ¹²⁰ <https://www.curemd.com/newly-diagnosed>. Accessed Jan 10, 2022.
- ¹²¹ <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02559830?cond=Metachromatic+Leukodystrophy&draw=2&rank=15>. Accessed Jan 11, 2022.
- ¹²² Piguet F, Sondhi D, Piraud M, et al. Correction of brain oligodendrocytes by AAVrh.10 intracerebral gene therapy in Metachromatic Leukodystrophy mice. *Hum Gene Ther* 2012;23:903-914.
- ¹²³ Choudhury G, Hordeaux J, Petucci C, et al. Long-term evaluation of the efficacy of intracerebroventricularly injected AAVhu68 encoding human codon optimized ARSA (hARSA) transgene in a mouse model of Metachromatic Leukodystrophy (MLD). *Molecular Therapy* 2022;30(4S1).
- ¹²⁴ Miyake N, Miyake K, Sakai A, et al. Treatment of adult metachromatic leukodystrophy model mice using intrathecal administration of type 9 AAV vector encoding arylsulfatase A. *Sci Rep* 2021;11:20513.
- ¹²⁵ Audouard E, Kheffif N, Mansat C, et al. Intravenous gene therapy using AAVPHP.eB for Metachromatic Leukodystrophy. *Mol Ther* 2022;30(4S1).
- ¹²⁶ Gingras J, St-Martin T, Gall K, et al. HMI-202: A gene therapy development candidate for metachromatic leukodystrophy (MLD). *Mol Genet Metab* 2020;132:S13-S116.
- ¹²⁷ Newman SK, Rupa CA. AAV9-hARSA decreases sulfatide accumulation in the aged ARSA^{-/-} mouse model for metachromatic leukodystrophy. *Mol Genet Metab* 2020;132:S13-S116.
- ¹²⁸ Audouard E, Oger V, Meha B, et al. Complete correction of brain and spinal cord pathology in Metachromatic Leukodystrophy mice. *Front Mol Neurosci* 2021;14:677895.
- ¹²⁹ Medicines H. Homology medicines presents new data characterizing AAVHSCs as potential gene therapies for nervous system disorders. <https://www.homologymedicines.com/news-story/homology-medicines-presents-new-data-characterizing-aavhscs-as-potential-ge>. Accessed June 6, 2022.
- ¹³⁰ Colle MA, Piquet F, Bertrand L, et al. Efficient intracerebral delivery of AAV5 vector encoding human ARSA in non-human primate. *Hum Mol Genet* 2010;19:147-158.
- ¹³¹ <https://www.affiniatx.com/our-science/our-pipeline/>. Accessed May 7, 2022.
- ¹³² <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01801709?term=Metachromatic+Leukodystrophy&draw=1&rank=9>. Accessed Dec 29, 2021.
- ¹³³ Rosenberg JB, Chen A, De BP, et al. Safety of direct intraparenchymal AAVrh.10-mediated CNS gene therapy for Metachromatic Leukodystrophy. *Hum Gene Ther* 2021;32:563-580.
- ¹³⁴ WHO multicentre growth reference study group. WHO Motor Development Study: Windows of achievement for six gross motor development milestones. *Acta Paediatrica* 2006;95:86-95.
- ¹³⁵ Hanna SE, Bartlett DJ, Rivard LM, et al. Reference curves for the gross motor function measure: percentiles for clinical description and tracking over time among children with cerebral palsy. *Physical Therapy* 2008;88:596-607.
- ¹³⁶ Sevin C, Roujeau T, Cartier N, et al. Intracerebral gene therapy in children with metachromatic leukodystrophy: results of a phase I/II trial. *Mol Genet Metab* 2018;123:S129.